

“补肾益脑片”分子机理研究

目的

1. 通过对补肾益脑片分子机理的研究，从分子水平上解释其抗衰老的药理作用机制；
2. 对现有的配方进行拆分，以已分离的差异表达基因作为分子标记，进行有效成分的筛选取，优化现配方，降低补肾益脑片的生产成本。
3. 对已分离的衰老相关基因进行分子作用机制研究，寻找其调控元件和调控因子，分析补肾益脑片在抗衰老中的基因调控途径。并在此基础上，寻找新的抗衰老药物。

现阶段工作进展

我们利用 mRNA 差异显示方法对快速衰老小鼠的脑组织进行的研究中，获得了 91 个差异表达的片段，其中的 32 个为衰老相关基因表达产物，其余多数为老年性疾病相关基因产物。其中的两个衰老相关基因，我们已获得了其 cDNA 全长克隆。

研究方案

1. 衰老相关基因上游调控区序列的获得
使用 PCR 方法从提取的基因组 DNA 中扩增并进行克隆与测序分析。
2. 上游调控元件分析及调控因子的寻找
 - 1). 从药物试验与对照组小鼠的脑组织中提取核蛋白，进行凝胶阻滞分析，对差异条带回收后对与其相作用的蛋白质进行测序分析，确定药物使用后参与调控的调控因子。
 - 2). 通过体外及体内甲基化分析，确定基因上游的调控元件的分布、序列及其性质。
 - 3). 分析基因上游调控元件与调控因子相与作用关系，以及调控因子之间的相与关系，寻找新的抗衰老药物。

3. 补肾益脑片原方进行拆分，用单一组分进行水提取物与醇提取物进行细胞培养分析，用已分离的衰老相关基因作为标记分子，进行比较分析。从中筛选有效组分的分布情况，对现配方进行优化。

预期成果

1. 发表论文 10 篇
2. 申请专利 1-2 项
3. 开发新产品 1-2 个

资金预算

实验动物费用：	200, 000
实验动物饲料费：	10, 000
常用试剂(含细胞培养)：	100, 000
试剂盒：	250, 000
同位素：	60, 000
核酸与蛋白质测序：	80, 000
大型仪器使用费与小型设备添置费：	100, 000
资料费（含论文发表与成果申请费）：	100, 000
交通费：	20, 000
场地、水电费：	100, 000
管理费：	60, 000
人员费：	120, 000
合计：	120 万